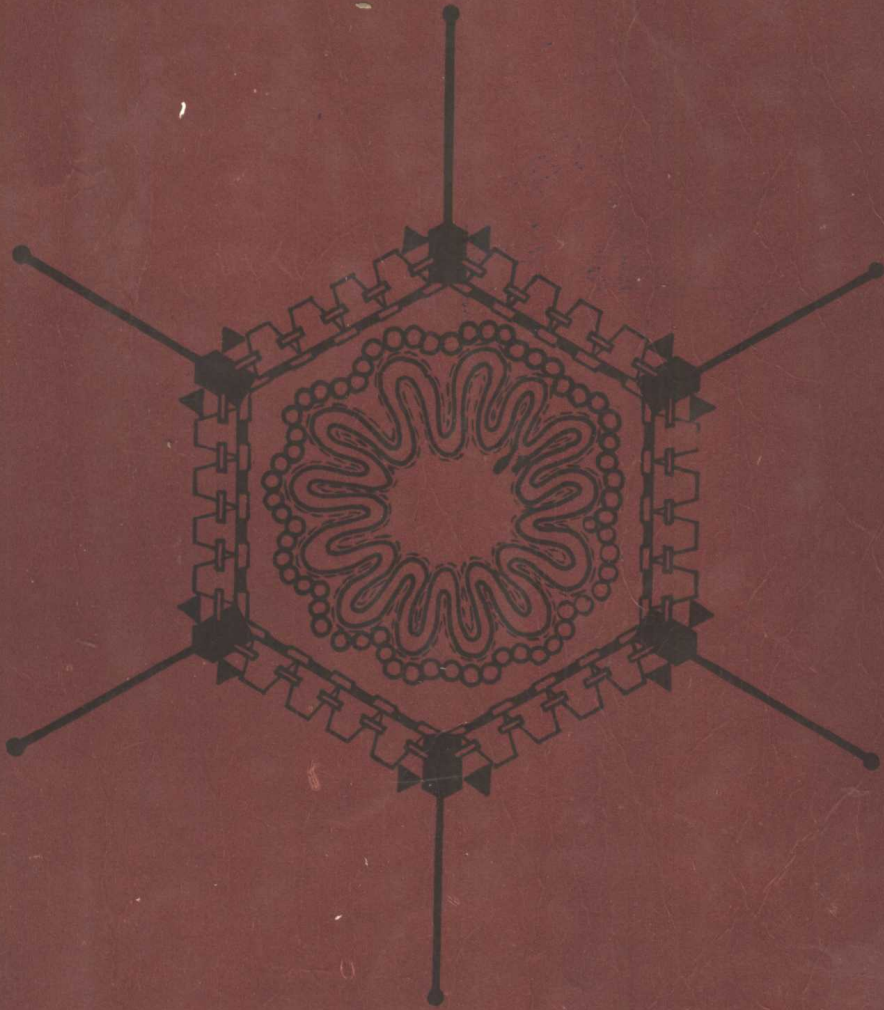


# 分子病毒学

MOLECULAR VIROLOGY

侯云德 著



学苑出版社

# 分子病毒学

侯云德 著

学苑出版社

## 内 容 提 要

这是一本系统分类的分子病毒学专著，内容包括医学病毒学、兽医病毒学、昆虫病毒学、植物病毒学以及噬菌体学的主要成就，涉及 38 个病毒科和 30 个病毒组。本书共 33 章，其中 6 章为总论，27 章为各论，分别就各类病毒包括亚病毒的毒粒结构、基因结构与功能、基因组的转录与调节、病毒蛋白的结构与功能、病毒繁殖机理、病毒感染的分子病理、分子流行病学，乃至病毒免疫和预防、干扰素、病毒与肿瘤等各个方面进行了系统的介绍，也包括了作者长期从事实验研究的经验。本书基本上概括了国内外分子病毒学家的研究成就，反映了 80 年代分子病毒学的新水平。本书每章有前言，说明其地位和重要性，章后有主要参考文献，以备读者查考，书后还附有分子病毒学专业术语汇编，以供初读者查阅。本书可作为医学院校、农业院校、综合大学的生物学科、生化学科的教学参考书，也可作为从事分子病毒学、医学和农业基因工程等生命科学的科技人员的参考书。

## 特 约 编 辑

陆德敏 官宜彬 王蕊萍 齐平健

朱丽辉 王克诚

分子病毒学

侯云德 著

学苑出版社出版 社址：北京西四颁赏胡同 4 号

北京昌平第二印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行

开本 787 × 1092 1/16 印张：43.5 字数：1055 千字 印数：5000 册 (精)  
1000 册 (平)

1990 年 7 月第 1 版 1990 年 7 月第 1 次印刷

ISBN 7-80060-848-4/R · 37 (精) 定价 35.00 元

ISBN 7-80060-259-1/R · 8 (平) 定价 25.00 元

## 序

1953年 Watson 和 Crick 阐明了 DNA 双螺旋结构，开创了分子生物学的新时代。三十多年来，有关 DNA 的研究有了飞跃发展。分子生物学的迅速发展又渗透到生命科学的各个领域，其中研究得最为活跃和领先的学科之一就是分子病毒学。

分子病毒学在生命科学中所以有如此重要的地位，原因有二：第一，病毒是目前所知最为简单的生命单位，分子病毒学的研究曾经为并继续为分子生物学的发展做出重要贡献，许多分子生物学中的重要规律是从研究病毒中发现的；第二，病毒与人类有着密切的关系，病毒不仅可以引起人类许多严重的传染病，包括席卷全球的艾滋病、肝炎和流感，而且某些人类肿瘤和慢性病也与病毒感染密切相关；另一方面，病毒病又是重要农作物和畜牧业的严重威胁，可使谷物大面积减产，牲畜大批死亡，造成巨大的经济损失。

分子病毒学在阐明病毒基因和产物的结构和功能的基础上，有可能揭示病毒感染分子病理的本质，从而为控制病毒病提供过去无法达到的有效防治手段。

过去的病毒学家，易于为学科专业所限，医学病毒学家往往对植物病毒、细菌病毒所知不多；而植物病毒学家往往对医学病毒学的知识了解不深。分子病毒学的飞跃发展，各类病毒的基因结构和功能的逐一被阐明，发现许多被人为专业分割的病毒之间，在分子结构和功能上有许多共同的规律（如弹状病毒科），这就要求，不论从事农业的还是医学的病毒工作者，对分子病毒学要有比较系统的全面的知识，才能更深刻地了解和把握特定病毒的本质，从而才能在特定病毒的研究中有所发现，有所前进。这就是编写本书的宗旨。据此，本书的特点是：第一，着重介绍病毒的分子结构和功能；第二，内容涉及所有主要的病毒科，包括植物病毒、昆虫病毒、细菌病毒、人和动物病毒等。

本书共 33 章，其中 6 章为总论，包括病毒分类、病毒感染和免疫、病毒和肿瘤、干扰素等；27 章为各论，包括 38 个病毒科、30 个病毒组以及亚病毒的毒粒结构、基因结构与功能、基因组的转录与调节、病毒蛋白的结构与功能、病毒繁殖的机理、病毒感染的分子机理和分子流行病学等。每章有前言，说明其地位

和重要性，章后有主要参考文献，以备读者查考，书后还附有分子病毒学专业术语汇编，以供初学者阅读。

由于本书学科专业跨度很大，作者水平有限，错误之处实难避免，希各位同行批评指正。

侯 云 德

中国预防医学科学院病毒学研究所  
病毒基因工程国家重点实验室

一九八九年九月于北京

# 目 录

一、 分子病毒学的发展史及其重要性 .....	(1)
二、 病毒的定义、起源、命名与分类 .....	(10)
三、 痘病毒科 .....	(19)
四、 杆状病毒科 .....	(72)
五、 虹彩病毒科 .....	(97)
六、 疱疹病毒科 .....	(114)
七、 腺病毒科 .....	(151)
八、 乳头瘤病毒 .....	(181)
九、 SV40—多瘤病毒 .....	(211)
十、 嗜肝 DNA 病毒科 .....	(223)
十一、 微小病毒科 .....	(237)
十二、 植物 DNA 病毒 .....	(247)
十三、 DNA 噬菌体 .....	(255)
十四、 副粘病毒科 .....	(286)
十五、 正粘病毒科 .....	(313)
十六、 弹状病毒科 .....	(329)
十七、 沙粒病毒科 .....	(369)
十八、 冠状病毒科 .....	(381)
十九、 布尼亚病毒科 .....	(395)
二十、 呼肠孤病毒科 .....	(408)
二十一、 披膜病毒科 .....	(426)
二十二、 黄病毒科 .....	(447)
二十三、 反转录病毒科 .....	(463)
二十四、 小 RNA 病毒科 .....	(494)
二十五、 其它动物 RNA 病毒科 .....	(510)
二十六、 RNA 噬菌体 .....	(515)
二十七、 植物 RNA 病毒 .....	(522)
二十八、 真菌病毒 .....	(559)
二十九、 亚病毒 .....	(562)
三十、 病毒的繁殖 .....	(573)
三十一、 病毒感染、免疫和预防 .....	(581)
三十二、 病毒与肿瘤 .....	(589)
三十三、 干扰素 .....	(598)
分子病毒学专业术语汇编 .....	(648)
英中名词索引 .....	(661)

# 第一章 分子病毒学的发展史及其重要性

## 前言

- 一、病毒学发展的四个阶段
  - (一) 经验阶段
  - (二) 机体水平研究阶段
  - (三) 细胞水平研究阶段
  - (四) 分子水平研究阶段
- 二、病毒学发展史上的重要进展
- 三、分子病毒学的主要内容与重要性
  - (一) 病毒的分子结构与功能
  - (二) 病毒感染的分子机理
  - (三) 真核基因调控原理与生命起源
  - (四) 病毒基因工程疫苗的研制
  - (五) 抗病毒多肽物质的研制
  - (六) 动物病毒载体的组建
  - (七) 病毒蛋白质工程
  - (八) 病毒病诊断和新病毒的发现

## 主要参考文献

1953年 Watson 和 Crick 发现了 DNA 双螺旋结构，开创了分子生物学的新时代。30多年来，有关 DNA 的研究有了飞跃的发展。70年代产生了 DNA 重组技术，这就是在试管内人为地把 DNA 分子进行切割、拼接（即重组），再设法把它放回到细胞中扩增，并表达产生人们所需要的蛋白。80年代初，蛋白质结构的研究又与 DNA 重组技术相结合，开创了新一代遗传工程——蛋白质工程。这是指在蛋白质空间结构和功能研究的基础上，借助于计算机图像显示和分子辅助设计，采用基因工程的技术对某一天然蛋白质分子进行改造，以期按照人们的意愿创造新的生命形态，表现新的遗传学特征。分子生物学的新技术新方法，渗透到生物学的各个领域，使生物学的研究进入了一个崭新的时代。

分子病毒学就是采用现代分子生物学的新理论、新技术、新方法，来研究病毒以及病毒与宿主细胞关系的一门学科，它是在生物学中研究得最为活跃的一个领域。

## 一、病毒学发展的四个阶段

自 1892 年 Ivanowski 发现病毒以来，病毒学在人类与病毒性疾病长期斗争的实践中，已逐步发展成为生物学界和医学、农学界中一门十分重要的学科。随着生物学研究技术的不断革新，病毒学的发展大致经历了如下四个阶段：

### (一) 经验阶段

这一时期包括公元十世纪直到 1892 年 Ivanowski 发现病毒，大约 900 年的历史。据香港



大学 Needman J. (1980) 的详细考证, 据传我国在北宋年间, 即相当于公元十世纪, 勤劳智慧的我国人民在世界上首先发明了采用人工免疫方法预防天花。方法是先收集轻型患者的感染性材料, 保存起来, 以后在必要时用棉花将感染性材料接种在鼻孔的内壁。这一方法曾在人群中大量使用, 免疫效果较好。在公元十七世纪, 我国先进的预防天花的免疫接种技术, 通过丝绸之路西行传入中东, 并很快扩展到全欧。根据有文字可查的记载, 1722~1730 年间, 在 845 名接种者中, 有 17 例因感染死亡。1753~1754 年疫苗接种的死亡率大约为 1%。尽管有这样的危险, 但人们由于对天花流行的可怕心理, 仍乐于接受这种疫苗。

在我国发明天花疫苗 700 年后, 于 1798 年, 英国人 Edward Jenner 才发现牛痘和人痘有相似性, 并发明了采用牛痘来预防天花 (后人预防天花采用的痘苗病毒, 不同于当时的牛痘病毒)。

1884 年法国人 Pasteur 又发明了狂犬病疫苗。这些都是在当时的社会条件和科学水平上, 在对病毒本质还不了解的情况下, 根据防病的需要, 人们总结实践经验而获得的成就。

## (二) 机体水平研究阶段

这一阶段包括 1892 年至 20 世纪 40 年代。1892 年 Ivanowski 发现, 患烟草花叶病的烟叶的浸出液, 通过一般细菌不能通过的滤器之后, 仍保留其感染性。6 年后 (1898 年) Beijerinck 也发现并证实了这一现象, 提出了滤过性病毒的概念, 并指出, 这是一类不同于细菌的致病因子。

1915~1917 年, F.W. Twort 和 F.d'Herelle 等发现了噬菌体。但在这一阶段, 病毒学工作者主要采用敏感动物 (如小白鼠) 或动物胚胎 (如鸡胚) 来研究病毒, 并分离鉴定了近百种病毒。同时, 在机体水平上研究了病毒的繁殖、发病机理和免疫反应等。这一时期, 病毒学虽有很大进展, 但尚未形成独立学科, 还是微生物学的一个分支。

## (三) 细胞水平研究阶段

在本世纪 40~60 年代, 组织培养技术开始广泛应用于病毒学领域。我国学者黄祯祥早在 1943 年就利用鸡胚组织块在试管内进行病毒传代、定量滴定及中和试验。许多学者采用这一新技术, 相继分离了上百种过去对动物不敏感的新病毒, 如腺病毒、副流感病毒、鼻病毒、呼吸道合胞病毒、ECHO 病毒和 Coxsackie 病毒等, 大大扩展了病毒学研究的范围。组织培养技术不仅为临床病毒学的发展奠定了基础, 而且还用于研究病毒的复制和遗传, 使对病毒本质有了进一步的认识。此外, 一批经济、安全、有效的组织培养疫苗诞生了, 如脊髓灰质炎、麻疹、风疹和腮腺炎疫苗等, 为预防病毒性疾病作出了贡献。

另一方面, 由于噬菌体易于培养和检测, 50 年代进行了大量的病毒学的基础研究, 初步阐明了病毒的感染机制、繁殖机制和基因整合机制, 乃至病毒的基因图谱等。

由于在这一时期内, 病毒学不论在理论上还是在实用上都有了很大的发展, 逐步形成了一门独立的学科, 也为分子病毒学的发展奠定了基础。病毒学的专门学术刊物, 于 50 年代初就问世了。

## (四) 分子水平研究阶段

1953 年以来, 分子生物学的飞跃发展, 新技术新方法的应用, 使病毒学的研究焕然一新。60 年代以来, 相继阐明了 DNA 和 RNA 病毒的繁殖机制; 发现了一类亚病毒; 绝大多数病毒基因组的无性繁殖系已经建立; 阐明了某些病毒基因的结构与功能的关系, 以及一些病毒的基因表达调控原理; 完成了各具有十几万对核苷酸的所有疱疹病毒科各成员基因组的



全序列分析；测定了有 48 502 对核苷酸的  $\lambda$  噬菌体 DNA 的全结构；发现了致癌基因和“抗癌基因”；查明了许多病毒的具有免疫保护作用的蛋白质（保护性抗原）的基因位置和核苷酸序列；阐明了某些病毒蛋白质的分子结构。分子病毒学在理论上的迅速发展，给病毒性疾病的防治实践带来了新的突破。如果说，由感染动物组织制备的病毒疫苗为第一代产品，由感染组织培养细胞制备的疫苗为第二代，那么，采用 DNA 重组技术生产的病毒疫苗则为第三代。目前，乙型肝炎病毒亚单位疫苗已经问世。DNA 重组技术不仅更新了病毒疫苗，对预防病毒性疾病将作出重大的贡献；而且也使病毒病诊断和抗病毒治疗发生了革命性的变化。多聚酶链锁反应（PCR）技术在病毒病诊断上的广泛应用，是一项重大的技术革新。具有广谱抗病毒活性的多肽物质——干扰素，在我国也已经可以采用基因工程技术由细菌发酵生产，投放市场。可以说分子病毒学的发展，导致了病毒病预防、诊断和治疗的新兴技术产业的兴起。

另一方面，分子病毒学的研究成果对分子生物学的发展也起了很大的推动作用。RNA 肿瘤病毒反转录酶的发现，不仅充实了阐明 DNA 复制和转录、mRNA 的翻译表达及蛋白产物的结构功能三者关系的中心法则，而且在实际应用上，使 RNA 在试管内反转录成 cDNA 成为可能。病毒基因结构和表达的研究还阐明了有关真核基因表达调控的某些原理，如基因重叠、间隙、内含子的发现，转录后剪修，重复序列和增强子的存在等等，都大大丰富了分子生物学的内容。多种病毒载体的出现，又为研究真核细胞基因表达提供了一个重要手段。分子病毒学与分子生物学互相渗透，互相促进。目前，它们还处于蓬勃发展阶段。

## 二、病毒学发展史上的重要进展

回顾病毒学发展史上的重要进展，不仅可以加深对病毒学这门学科的认识，而且还可以更准确地把握病毒学未来发展的方向。

在病毒学发展的历史上，我们的祖先对病毒性疾病的预防和治疗曾累积了丰富的经验。在近代史上，我国的科学家也做出了不少重要贡献。我国病毒学的奠基人之一汤非凡教授，早在 1927 年就与 Zinsser 一起首创了醋酸火棉胶滤膜，并测定了一系列蛋白和病毒的大小，他们的工作比 Elford 的工作还要早，是采用理化方法研究病毒本质的先驱者。1943 年黄祯祥教授在美国创建了体外培养和鉴定病毒的新技术，随着细胞培养技术的不断完善，病毒学又经历了一次飞跃，使病毒学家能够在细胞水平上研究病毒的本质。1949 年朱既明首次发现了流感病毒的丝状体并在试管内用乙醚和其它表面活性剂将流感病毒裂解为有生物学活性的亚单位，可以说他是研究病毒分子结构的先驱者之一；在植物病毒方面，我国学者高尚荫早于 40 年代就对 TMV 进行过开创性的研究。1949 年以来，新中国又涌现出一批年青的病毒学家，他们为病毒学的发展和我国病毒病的防治也作出了杰出的贡献。表 1—1 列举了国外学者在病毒学发展史上的主要成就。

表 1—1 病毒学发展史上的重要进展

年份	作者	主要成就
1798	E.Jenner	接种牛痘预防天花
1885	L.Pasteur	制成狂犬疫苗
1892	Iwanovski	发现烟草花叶病病原的滤过性
1898	M.W.Beijerinck	发现烟草花叶病的滤过性病原
	F.Loeffler等	发现口蹄疫病原的滤过性
1907	G.Cuiffo	发现人类疣组织的无细胞超滤物也可以在人与人之间传播
1908	V.Ellerman等	发现鸡白血病病原可用无细胞滤液感染鸡来传代
1909	Landsteiner等	分离了Polio病毒
1911	P.Rous	RSV的发现
1915	F.W.Twort	发现噬菌体
1917	F.d'Herelle	发现噬菌体
1931	Goodpasture等	用鸡胚进行病毒传代
1933	R.E.Shope	鉴定了兔乳头瘤病毒
1934	M.Schlesinger	获得纯化的噬菌体
1935	W.M.Stanley	获得TMV次结晶
1937	F.C.Bawden等	阐明了植物病毒的核壳体
1937	M.Theiler	获得了黄热病减毒活疫苗
1938	W.J.Elford	测定了各种病毒颗粒的大小
1939	G.A.Kausche等	在电镜下看到TMV
1940	M.Delbruck	阐明了噬菌体的复制周期
1941	Hirst	发现流感病毒具有对红细胞的凝集作用
1942	J.J.Bittner	发现第一个哺乳动物RNA肿瘤病毒(小鼠乳腺瘤病毒)
1949	J.J.Enders等	利用单层细胞培养脊髓灰质炎病毒
1950	A.Lwoff等	阐明了溶原性噬菌体诱导的原理
1951	L.Gross	鉴定了一株引起小鼠白血病病毒
1952	A.D.Hershey等	证明一种噬菌体DNA具有感染性
1952	J.I.Harris等	揭示了TMV外壳蛋白的化学性质
1952	N.D.Zinder等	发现转导现象
1952	E.Wollman等	发现溶原性噬菌体
1952	Dulbecco	利用细胞单层培养进行蚀斑试验
1953	Salk	利用细胞培养制备脊髓灰质炎灭活疫苗
1955	Sabin	制备脊髓灰质炎减毒活疫苗
1955	H.Fraenkel—Conrat等	成功地将TMV的核酸及其蛋白亚单位重建出感染性的TMV
1955	F.L.Schaffer等	获得脊髓灰质炎病毒的结晶
1956	H.Fraenkel—Conrat等	证明TMV—RNA分子具有感染性

年 份	作 者	主 要 成 就
1957	Colter	成功地从Mengo脑炎病毒颗粒内提取出感染性核酸
1957	Isaacs等	发现干扰素
1957	Stewart等	用细胞培养分离出多瘤病毒
1958	A.Gierer等	通过化学诱变获得TMV突变体
1959	F.A.Anderer	阐明了TMV外壳蛋白变性的可逆性
1960	A.Tsugita等	测定了TMV外壳蛋白的氨基酸序列
1962	D.L.D.Casfar等	阐明了许多病毒的二十面体结构
1962	D.Nathans等	噬菌体RNA在体外翻译
1965	S.Spiegelman等	成功地在体外复制Q $\beta$ 噬菌体RNA
1967	M.Goulian等	成功地在体外复制 $\phi$ X174噬菌体
1967	T.O.Diener等	阐明类病毒的本质
1968	G.Henle等	揭示EBV与传染性单核细胞增多症及Burkitt淋巴瘤有关
1968	P.H.Duesberg	阐明流感病毒的多节段RNA基因组
1970	P.H.Duesberg等	揭示Rous肉瘤病毒含有癌基因
1970	H.M.Temin, D.Baltimore等	发现逆转录酶
1973	E.M.Scolnik等	取得大鼠细胞遗传信息稳定转录到小鼠肉瘤病毒的证据
1976	D.Stehelin等	发现正常细胞中含有与RSV癌基因 (SRC) 相对应的基因
1977	F.Sanger等	测定了 $\phi$ X174的DNA全序列
1977	L.T.Chow等	阐明了腺病毒转录过程中的mRNA拼接现象
1978	W.Fiers, V.B.Reddy	测定了SV40的全序列
1978	T.Taniguchi等	证明Q $\beta$ cDNA具有感染性
1978	M.S.Colett等	证明RNA肿瘤病毒转化基因SRC的产物是磷酸激酶
1979	T.Taniguchi	人干扰素基因工程宣告成功
1980	B.J.Poiesz等	发现一株与白血病相关的人类逆转录病毒
1980	WHO	世界卫生组织宣布全世界已消灭天花
1980	M.Rizzetto	发现HDV
1981	D.K.Kleid等	利用重组DNA技术制成口蹄疫病毒疫苗
1982	J.Summers等	发现乙型肝炎病毒DNA复制中有逆转录过程
1982	B.Moss, E.Paoletti	痘苗病毒作为载体表达外源基因
1983	Montagnier, R.C.Gallo	分离到与AIDS相关的人类逆转录病毒
1985	H.von der Patten等	利用逆转录病毒为载体将外源基因导入小鼠
1985	M.G.Rossmann等	在3A以下阐明了鼻病毒的晶体结构

### 三、分子病毒学的主要内容和重要性

目前分子病毒学主要向两个方向发展,一是着重在理论方面,采用现代分子生物学技术阐明病毒及病毒感染的本质;另一方面是着重在应用,也就是病毒基因工程。两者相互依存,相互促进,其主要内容和重要性可以概括如下:

#### (一) 病毒的分子结构与功能

要研究病毒基因组的结构与功能的关系,一般须先建立病毒基因组的无性繁殖系,这样才能获得足够量的病毒 DNA。无性繁殖系可采用细菌质粒、粘性质粒或 $\lambda$ 噬菌体作为载体,转化大肠杆菌来完成。大的 DNA 病毒基因组可用限制性内切酶切割成几个片段进行克隆; RNA 病毒可先在试管内反转录成 cDNA 再进行克隆;反转录病毒基因组可克隆其前病毒 DNA。建立了病毒基因组的无性繁殖系后,就可以采用化学法或酶促法测定病毒基因组的核苷酸序列,以了解基因的一级结构。借助于计算机分析,结合在试管内进行的转录和翻译试验,或基因缺失变异株的互补试验等,就可逐步阐明其结构和功能之间的关系,并了解基因表达调控的某些原理。

另一种途径是,采用重组 DNA 技术表达病毒蛋白,或直接从纯化的毒粒中分离纯化病毒蛋白,再阐明其结构与功能。

#### (二) 病毒感染的分子机理

病毒感染不同于其它微生物的感染,从本质上来说是一种分子感染。因此,分子病毒学的另一个重要任务是研究病毒与靶细胞的相互作用,以求进一步阐明病毒发病与免疫的分子机制。这一领域也就是“病毒分子病理学”,包括病毒蛋白与靶细胞受体的相互关系,病毒的持续性感染,病毒基因与细胞基因组的相互作用,病毒感染与免疫等等。

#### (三) 真核基因调控原理

分子生物学的一个重要命题是阐明基因调控原理。但是真核基因组的结构与调控原理十分复杂,而动物病毒却可提供一个简便的研究模型。实际上,在分子生物学中已知的有关真核基因组结构与调控原理,大多是通过分子病毒学的研究获得的。众所周知,正是由于 RNA 肿瘤病毒逆转录酶的发现,导致对中心法则进行了重大修正。证明真核基因的不连续性,是在研究腺病毒时发现的,如此等等。由此可见,分子病毒学过去已经,今后也将继续对整个分子生物学的进展作出重要贡献。

表 1—2 真核基因与原核基因组结构以及表达调控上的差异

差 异	真 核 基 因	原 核 基 因
1.基因结构	大多数是不连续的,有内含子	连续的,无内含子
2.转录后加工	转录形成前 RNA,拼接后为成熟 RNA	转录产生成熟 RNA
3.转录酶	I、II、III三类	有各自的 RNA 聚合酶
4.启动基因调控序列	-12~-32 位(TATA 序列)、-70~-80 位保守区,增强子序列等	-10 位(Pribnow 序列)、-35 位保守区
5.转译起始信号	有的需要 5'端 7-甲基鸟苷酸帽子结构	在 ATG 前有 3~12bp 的 SD 序列
6.转录终止信号	3'端终止区有 AAUAAA 序列	有依赖和不依赖 rho 蛋白二种形式

#### (四) 病毒基因工程疫苗的研制

对产生中和抗体的病毒多肽基因高效表达的研究，导致了新一代病毒疫苗的诞生。鉴于动物病毒的自然宿主是动物细胞，所以动物病毒基因表达的模式与其它真核基因是类似的。众所周知，真核基因与原核基因的表达调节，在许多方面是不相同的（表 1—2），其中最主要的是真核基因的不连续性，以及其调控信号不能为原核细胞正确识别。所以病毒基因在一般情况下，最好采用真核细胞系统来表达。也就是说，病毒基因工程疫苗要采用真核细胞系统来完成。可是，如果病毒基因先在试管内从 mRNA 反转录成 cDNA，利用原核细胞的启动子，也可以在原核细胞中进行表达。目前，用于制备病毒基因工程疫苗的表达系统的种类和优缺点详见表 1—3。

表 1—3 用于制备疫苗的病毒基因表达系统的种类和优缺点

病毒基因表达系统	优 缺 点
1.原核细胞系统	多拷贝，易于制备，但不能进行转录后加工，不能糖基化，大部分不能分泌。
2.酵母系统	易于制备，能进行转录后加工，但不易纯化。
3.重组病毒系统	经济，可以多价，但有活疫苗的某些缺点。
4.共转化细胞系统	能分泌，也易于纯化，可进行转录后加工，能糖基化；但转化的 DNA 整合到细胞染色体时，可以发生重排，拷贝数少。

病毒基因工程疫苗虽然还存在一些问题，但是与采用经典方法生产的病毒疫苗相比较，仍有许多明显的优点：

- 1.可以生产目前尚无敏感细胞的病毒疫苗，例如乙型肝炎病毒表面抗原疫苗；
- 2.如采用重组病毒系统，例如痘苗病毒，易于制备同一载体的多价病毒疫苗；
- 3.可以完全去除病毒基因中具有潜在危害性的部分，例如某些病毒的致癌基因；
- 4.可以制备单一成分病毒疫苗，也可以制备同一病毒的多个成分的病毒疫苗。

#### (五) 抗病毒多肽物质的研制

自 1979 年底以来，不少人和动物的干扰素基因已经克隆成功。人干扰素基因在原核细胞中已可高效表达，每升大肠杆菌菌液可以生产 1 mg 干扰素，相当于  $2 \times 10^8 \sim 3 \times 10^8$  国际单位干扰素。采用 DNA 重组技术生产的干扰素具有与自然干扰素相同的生物学活性，目前已经投放市场。采用基因工程技术还可以把几个不同型别的干扰素基因拼接起来，生产具有不同性能的自然界所没有的活性多肽物质，例如把  $\alpha D - \alpha A$  基因拼接后产生的干扰素，既具有  $\alpha D$  的某些性状，又具有  $\alpha A$  的一些性状。所以 DNA 重组技术为生产人造抗病毒多肽物质开辟了一条新途径。除干扰素外，其它多种淋巴因子，如白细胞介素—2、肿瘤坏死因子等，也都可以采用 DNA 重组技术大量生产。

#### (六) 动物病毒载体的组建

原核细胞系统的 DNA 重组技术，对真核基因，包括动物病毒基因的克隆和鉴定，无疑是十分必要的。因为真核基因工程的起始步骤都先原核细胞内完成。但是正如表 1—2 所示，真核基因与原核基因的结构与表达调节有很大差别，要进行病毒基因或其它真核基因的表达调节研究，就必须建立一种真核基因工程系统。考虑到  $\lambda$  噬菌体载体(一种细菌的病毒)在大肠杆菌克隆系统中表现出很多优点，许多学者也就对采用动物病毒作为真核细胞克隆和表达的载体，寄予很大希望。可是动物病毒与噬菌体各有许多不同的特点，在使用或改造动物

病毒作为载体时,应当注意下列问题:

1.作为载体的多数病毒基因的非必需区比较短。在设计 $\lambda$ 噬菌体载体时,最简单的途径就是先确定一个对溶细胞性生长不必要的基因片段,然后在这一非必需区替代外源性 DNA。在设计动物病毒载体时,外源性 DNA 往往代替了病毒基因的必需区。在此情况下,重组病毒是绝对缺损性的,必须在辅助病毒存在的条件下才能繁殖,或者在染色体中已整合有辅助病毒基因的细胞中才能生长。再者,能够作为感性病毒繁殖的重组 DNA 分子大小,还要受到病毒颗粒包装容量的限制,目前还没有动物病毒的试管内包装系统。

但是,痘苗病毒基因组比较大,有较大的非必需区,作为病毒载体是很有前途的。

2.动物病毒作为载体,首先要求对该病毒的转录机制有清楚的了解。因为在大多数情况下,真核基因克隆的目的是要使插入基因能够高效表达;而在 $\lambda$ 或 M13 噬菌体的大多数工作中,基因克隆的目的大多是为了使外源性 DNA 进行扩增或者进行序列分析。

3.在病毒载体中,目前还没有有效的可以控制病毒基因转录的具体方法。而在 $\lambda$ 噬菌体的克隆实验中,可以采用 $\lambda$ cIts857 的溶原性细菌或带有 cIts857 的质粒来控制  $P_L$  启动子。采用这样的系统,就可以表达许多对细菌本身有毒性的多肽。

4.在动物病毒载体中,要考虑基因表达增强子的作用,而在 $\lambda$ 噬菌体,目前尚未见报道。

动物病毒载体的组建有两种类型:第一是组建含有目的基因的感染性重组病毒,随着病毒的繁殖使目的基因有效表达。采用这一系统时,除反转录病毒外,大多数溶细胞性病毒可以杀死细胞。第二是建立一种能使病毒载体复制的游离基因,其优点是,可以用来建立不产生溶细胞性病毒颗粒却能不断表达外源性基因的细胞系,而且还可以克服病毒颗粒包装容量的限制。根据不同目的和要求,这两类动物病毒载体各有其用处。

动物病毒载体的用途有如下几方面:

- 1.研究真核基因表达调控原理;
- 2.高效表达真核基因,用于研制病毒疫苗或生产多种活性多肽物质;
- 3.利用病毒基因组中的基因转录增强子;
- 4.人类遗传病的基因治疗。

### (七) 病毒蛋白质工程

在阐明了病毒特定蛋白质的立体结构与功能关系的基础上,就可以根据人们的需要,采用基因工程技术改变蛋白质的结构,使之更符合人们的要求。例如,在阐明病毒中保护性抗原的立体结构之后,就可以改变某些氨基酸使之有更强的抗原性等。

### (八) 病毒病诊断和新病毒的发现

随着抗病毒药物的问世,病毒病的诊断愈来愈显得重要。目前,由于分子病毒学的发展,诊断方法也日新月异,例如近年发展起来的耐热多聚酶链锁反应 (PCR) 在病毒病的诊断上就是一个重大的技术革新。原则上,只要细胞或其它样品中含有一分子的病毒基因,就可以采用 PCR 技术检出其病毒。分子病毒学的诊断技术也为发现新病毒提供了手段。例如,最近阐明的非甲非乙型肝炎病毒,就是采用现代分子病毒学检测技术获得成功的。常用的方法是先从样本中分离纯化病毒基因组,如为 RNA 病毒,则需经逆转录成 cDNA,然后进行扩增、克隆、序列分析,就不难判断其病毒种类了。

## 主要参考文献

朱既明: 病毒学报, 3:305, 1987

侯云德: 病毒基因工程原理与方法, 人民卫生出版社, 北京, 第一版, 1985

Dulbecco R et al Virology, J. B- Lippincote Company, 1988

Fraenkel-Conrat H et al: Virology, second Edition, Prentice Hall, p.1~16, 1988

Wildy P: Jenner, genes, vaccines and black-boxes. In "Molecular basis of virus disease", ed by Russell W C et al, Cambridge University Press, p.1~19, 1987



## 第二章 病毒的定义、起源、命名与分类

### 一、病毒的定义

### 二、病毒的起源

### 三、病毒的命名与分类

#### (一) 病毒分类的原则

#### (二) 动物病毒的命名与分类

#### (三) 植物病毒的命名与分类

#### (四) 噬菌体的命名与分类

#### (五) 亚病毒的命名与分类

### 主要参考文献

## 一、病毒的定义

关于病毒的定义，随着对病毒本质认识的不断深化有不同的含义。在 Ivanowski-Bejerinck 发现病毒时，是指一类可以通过细菌滤器的病原体，当时称为滤过性病毒。随后，由于对病毒的化学组成、繁殖方式的了解，又把支原体、立克次体和衣原体与病毒区别开来。在 60~70 年代，病毒一词的含义是指那些在化学组成和繁殖方式上不同于其它微生物，只能在宿主细胞内进行复制的一类最小的微生物。它只含有一种类型的核酸，DNA 或 RNA 作为其遗传信息的载体，经过基因复制与表达产生子代病毒核酸和蛋白，然后再进行装配成完整的病毒颗粒。完整的病毒颗粒 (Viron) 是指在形态学上成熟的病毒个体。有些病毒其基因组有缺损，称为缺损病毒。某些 RNA 病毒在其繁殖过程中需经反转录酶合成互补 DNA (cDNA)，并与细胞染色体 DNA 整合，称为 DNA 前病毒。

1971 年美国 Diener 发现了一种只含小分子量 RNA 不含蛋白的类病毒，说明自然界存在比病毒更简单的致病因子。1981~1983 年，在澳大利亚陆续发现四种多面体病毒颗粒中含有类似类病毒的 RNA，称为拟病毒 (Virusoid)，其小分子量 RNA 和病毒基因组 RNA 共同对所引起的病害负责。1982 年美国加州大学 Prusiner 发现羊搔痒病是由分子量 50KD 蛋白质感染引起的，没有核酸，称为蛋白侵染子 (Prion) 或朊病毒 (Virino)。1983 年 6 月在意大利米兰附近的 Bellagio 召开了“植物和动物亚病毒病原：类病毒和朊病毒”国际会议，正式把类病毒、拟病毒和朊病毒归纳为亚病毒 (Subviruses)。

亚病毒的发现，无疑对原有病毒的含义提出了挑战。联系到细菌质粒和噬菌体的情况，病毒的定义可以概括成：病毒是一类具有生命特征的遗传单位。

研究病毒的本质及其与宿主的关系的学科称为病毒学。研究与人类疾病有关的病毒的本质及其与宿主关系的学科称为医学病毒学，它历来是病毒学中最活跃的一个领域。同样还有兽医病毒学、植物病毒学、昆虫病毒学和噬菌体学等。

## 二、病毒的起源

病毒在自然界分布极为广泛，可以说是无处不在，很难说有任何人或动植物不携带病毒或病毒的部分基因。病毒的发生、进化、演化，乃至生命的起源，是生物界中的一个重要的研究命题。关于病毒的起源，在历史上曾有几种假说，但都不令人满意。

第一，认为病毒是地球上生物进化过程中，一种最为原始的生命物质。按照生物进化的一般认识，地球上自从有了生命物质产生和进化的环境以来，先由无机物质演化成有机物质，再演化为大分子的生命物质，病毒就是在这样的基础上产生的。然后从结构简单的小病毒到结构复杂的大病毒，进而演化为衣原体、立克次体、原核细胞、真核细胞、多细胞生物乃至高等动物。只要地球上产生生命物质的环境继续存在，生命物质的进化过程就不会停止，新的病毒也会不断发生。但是，众所周知，病毒是必须依赖宿主细胞才能进行繁殖的，那么就很难想象病毒是起源于细胞之前，而不是在细胞之后。另一方面，病毒自身的演化过程，也很难想象不与地球上千千万万种处于不同演化阶段的生物发生相互作用。上述认为病毒是细胞前的生命物质的假说，显然是过于简单、武断。世界上任何的物质都是运动着的，在运动过程中是互相依存和相互制约的，而后者必然会有反作用，反过来影响物质运动的方向，甚至使之发生质的改变。

第二，认为病毒是一种较高级微生物的退化性生命物质，也就是说是通过退化形成的。由于外界环境的作用，较高级微生物的某些基因会逐步丢失，从而不能自身繁殖，必须依赖于另一种处于较高进化阶段的细胞才能完成本身的新陈代谢。

第三，内源性假说。认为病毒来源于细胞核酸，病毒的基因组可能就是细胞染色体或线粒体的基因物质，由于种种原因，部分核酸脱离出来，独立存在。

以上三种假说均无足够的说服力，有待积累更多资料，进一步研究。

## 三、病毒的命名与分类

病毒分类是病毒学中一个根本的重要问题，但是，由于迄今人们对病毒本质的认识还在不断深化，所以目前的病毒分类尚需要进一步完善。

按宿主细胞的种属可以将病毒分为脊椎动物病毒、无脊椎动物病毒、植物病毒、细菌病毒（噬菌体）和真菌病毒等。

在40~50年代，在医学病毒学中，很多学者以病毒对宿主或对宿主某一器官的“嗜性”作为分类的依据，将与人类疾病有关的病毒分为嗜神经病毒、嗜内脏病毒、肠道病毒、呼吸道病毒等。50~60年代，由于分子病毒学的迅速发展，积累了大量有关病毒理化性质的资料，发现按嗜性分类，虽然临床医生乐于接受，但是不能表达自然病毒群落的特点，以及其间的亲缘关系。1958年左右，Andrewes等主张按病毒本身的理化性质进行分类，随后，日益为更多的学者所赞同。1971年成立了国际病毒分类学委员会（ICTV），拟定并通过了一个基本上按病毒的理化性质进行分类的方案，动物病毒学家率先采纳了林奈的命名系统，使用科、属、种的分类法，科的名字后缀Viridae，亚科缀Virinae，属以下缀Virus。该委员会每1~2年举行一次会议，根据研究进展，不断作出局部修改。近几年来，对病毒基因组结构有了更多的了解，以病毒基因组的结构作为病毒分类的标准，又日益受到病毒学家的广泛重视，所以又在原有分类的基础上，相继作了补充和修改。现将目前对动物病毒、植物病毒、细菌病毒的分类，简述如下：